

патофизиологических условиях, как это было описано ранее, но и у нормотензивных животных.

Данная работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований

ЛИТЕРАТУРА

1. Rubanyi GM, Polokoff MA. Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology // *Pharmacol Rev* - 1994. 46:325-415.
2. Haynes WG, Webb DJ. Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease // *J Hypertens* - 1998. 16:1081-1098.
3. Ong ACM. Surprising new roles for endothelins // *BMJ* - 1996. 312:195-196.
4. Kurihara Y, Kurihara H, Suzuki H, Kodama T, Maemura K, Nagai R, Oda H, et al. Elevated blood pressure and craniofacial abnormalities in mice deficient in endothelin-1 // *Nature* - 1994. 368:703-710.
5. Battistini B, D'Orleans-Juste P, Sirois P. Endothelins: circulating plasma levels and presence in other biologic fluids // *Lab Invest* - 1993. 68:600-628.
6. Teerlink JR, Carteaux JP, Sprecher U, Loffler BM, Clozel M, Clozel JP. Role of endogenous endothelin in normal hemodynamic status of anesthetized dogs // *Am J Physiol* - 1995. 268:H432-440.

ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ ЭНДОТЕЛИНА-1 В ОТВЕТАХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ НА СТРЕСС

¹Графов М.А., ²Давыдова М.П., ³Зарецкий Д.В., ³Зарецкая М.В., ²Медведева Н.А.

¹Факультет Фундаментальной медицины и ²Биологический факультет, Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, ³Российский Кардиологический Научно-производственный Комплекс МЗ РФ, Москва

Введение

Эндотелин (ЕТ-1) - эндогенный пептид, который продуцируется эндотелием сосудов и является универсальным регулятором большинства важнейших функций организма (кровообращения, нейромедиаторных и эндокринных процессов и т.д.). Однако в настоящее время остается практически неизученным его физиологическое (в противовес интенсивно изучаемому патологическому) значение в организме. Между тем, многие адаптивные реакции организма сопряжены с увеличением уровня ЕТ-1 в крови (1-2). Наряду с этим, чувствительность сердечно-сосудистой

системы к ЕТ-1 значительно увеличивается при стрессе (3). Наряду с ростом концентрации самого гормона в данных условиях это указывает на его возможное участие в формировании ответа организма на стресс. При этом в опытах *in vivo* введение экзогенного ЕТ-1 вызывает сдвиги функционального состояния организма, часть которых идентична реакциям наблюдаемым при стрессе (4, 5). В представленной работе изучалось влияние антагониста эндотелиновых рецепторов на развитие стресс-реакции организма, а также состояние системы ЕТ-1 (уровень в крови, чувствительность сосудов и т.д.) в этих условиях.

Материалы и методы исследований

На различных стадиях исследования использовали самцов крыс линии Wistar весом 220-330 г. В ряде экспериментов использовали стресс-неустойчивых крыс линии August весом 270-330 г (возраст 14-16 недель). Для исследования параметров гемодинамики и введения веществ крысам за день до эксперимента под наркозом (нембутал, 40 мг/кг) вживляли полиэтиленовые катетеры. В большинстве опытов использовали модель иммобилизационного стресса, которую воспроизводили фиксацией всех четырех конечностей и головы животного. Продолжительность стрессирования составляла 60 мин. Для длительного стрессирования использовали неконтролируемые болевые раздражения, которые создавали в течение 1 часа на протяжении 20 дней. Для изучения роли эндогенного ЕТ-1 применяли неселективный ЕТа/ЕТб блокатор эндотелиновых рецепторов PD 142893, вводимый внутривенно (2 мг/кг болюсно с последующей инфузией 0.033 мг/кг/мин). При этих параметрах введения в контрольных опытах антагонист значительно снижал амплитуду и длительность как гипотензивной, так и гипертензивной фазы ответа на болюсное введение ЕТ-1. Для определения секреторной функции надпочечников использовали методику микродиализа по ранее описанной схеме (6). Изучение реактивности сосудов производили в экспериментах *in vitro*. Ответы колечек изолированной аорты (длина 3 мм) изучали в изометрических условиях с предварительным периодом стабилизации под нагрузкой 1.2 г. Сегменты хвостовой артерии (длина 6 мм) перфузировали в условиях постоянного потока (2 мл/мин). Во всех экспериментах использовали модифицированный раствор Кребса-Хенселяйта в стандартных условиях (37 °С, рН 7.4, аэрация 95% O₂ и 5% CO₂). Все данные представлены как mean±SEM, для статистической оценки результатов использовали *t*-тест Стьюдента, U-тест Манна-Уитни, ANOVA для множественных сравнений.

Результаты и их обсуждение

Уровень ЕТ-1 в плазме крови у крыс линии Wistar составил 50.0±3.9 фмол/мл. При иммобилизационном стрессе наблюдали увеличение этого параметра до 65.2±7.3 фмол/мл. В отдельной серии экспериментов инфузия экзогенного ЕТ-1 (2 пмол/кг/мин в течение 90 мин) не влияла на

уровень пептида в крови в покое, но значительно увеличивала его концентрации при стрессе (до 97.3 фмол/мл). Стресс сопровождался значительным увеличением артериального давления (АД, от 111 ± 2 мм рт ст до 141 ± 3 мм рт ст) и частоты сердечных сокращений (ЧСС, от 342 ± 11 уд/мин до 505 ± 5 уд/мин), а также значительным приростом секреции катехоламинов в надпочечниках. Инфузия антагониста эндотелиновых рецепторов не влияла ни на один из этих параметров ни в условиях покоя, ни при стрессе. В условиях длительного стресса на кольцах изолированной аорты показано увеличение максимальных ответов на ЕТ-1 (с 4.21 г в контроле до 4.79 г), в то время как ответы на норадреналин оставались практически неизменными (3.80 г и 3.82 г, соответственно).

У стресс-неустойчивых крыс линии August обнаружен значительно пониженный по сравнению с линией Wistar уровень ЕТ-1 в плазме крови (7.1 ± 1.0 фмол/мл). Этот показатель возрастал в ответ на иммобилизационный стресс (11.0 ± 1.6 фмол/мл), но все равно оставался ниже контрольных значений. Эксперименты *in vivo* выявили, что базовый уровень АД и ЧСС близок к показателям гемодинамики в покое у крыс Wistar, в то же время увеличение ЧСС в ответ на стресс у стрессчувствительных крыс было менее значительным. Введение PD 142893 крысам August не влияло на значения АД и ЧСС в покое, а также на вызванное стрессом изменение ЧСС. В то же время, блокада эндотелиновых рецепторов частично предотвращала увеличение АД при стрессе. В экспериментах *in vitro* была выявлена пониженная чувствительность к ЕТ-1 изолированных сосудов крыс линии August. Уровень EC_{50} (50% эффективная концентрация) для колец изолированной аорты составил 22.1 ± 8.7 нМ по сравнению с 6.3 ± 2.1 нМ у крыс линии Wistar. В экспериментах на хвостовой артерии изучали эффекты однократного введения ЕТ-1 в концентрации 50 нМ у сосудов предварительно предсокращенных норадреналином (0.3 – 0.5 мМ). В этих условиях расслабление сосуда в ответ на ЕТ-1 не развивалось ни в одном из экспериментов. Сосудосуживающая реакция в ответ на ЕТ-1 у крыс линии August была ниже: увеличение перфузионного давления составило 37.8 ± 9.7 мм рт ст по сравнению с 75.2 ± 12.3 мм рт ст у крыс Wistar.

Таким образом, в экспериментах на крысах Wistar показано, что циркулирующий ЕТ-1 увеличивается в ответ на стресс, но, видимо, не играет существенной роли в вызванных острым стрессом изменениях уровня АД, ЧСС и синтезе катехоламинов надпочечниками. В опытах на наркотизированных собаках другими исследователями показана эффективность антагонистов эндотелиновых рецепторов модулировать синтез катехоламинов при местном введении (4). Исходя из этого, можно заключить, что эндогенный пептид играет роль в ответах на стресс либо как паракринный фактор, либо как фактор, обеспечивающий более длительные адаптивные реакции организма. Исходя из опытов на

изолированных сосудах и опытов по изучению выведения пептида из крови, можно предположить, что изменения в системе эндогенного ET-1 могут являться фактором патогенеза связанных со стрессом заболеваний, например - гипертонии. На это может указывать увеличение вызванных ET-1 сосудосуживающих реакций у нормотензивных крыс. Интересными также являются сведения о нарушении системы выведения ET-1 при стрессе. С одной стороны, это обеспечивает более длительное влияние на сосуды этого мощного сосудосуживающего фактора; с другой, косвенно указывает на снижение плотности ET β рецепторов в сердечно-сосудистой системе, через которые опосредуется стимулирующее влияние ET-1 на синтез оксида азота.

Парадоксальным наблюдением является тот факт, что у стресс-чувствительных крыс линии August понижен уровень ET-1 в крови, показано его участие в регуляции АД при стрессе и выявлена пониженная чувствительность сосудов к пептиду. Представляется заманчивым заключить, что показанная многими авторами пониженная устойчивость крыс линии August обусловлена недостатком эндогенного ET-1, однако эта гипотеза нуждается в дальнейших исследованиях.

Данная работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований

ЛИТЕРАТУРА

1. Akimoto M. Endothelin levels under water-immersion stress in rats. *Jap J Gastroenterol* - 1992. 89:1982-1989.
2. Maeda S, Miyauchi T, Sakai S, et al. Prolonged exercise causes an increase in endothelin-1 production in the heart in rats. *Am J Physiol* - 1998. 275:H2105-2112.
3. Давыдова М.П., Медведева Н.А. Влияние инфузии эндотелина-1 на изменение параметров сердечно-сосудистой системы при иммобилизационном стрессе у крыс линий Lewis и Wistar. *Бюлл эксп биол мед* -1998. 125(3):275-278.
4. Yamaguchi N. Role of ET(A) and ET(B) receptors in endothelin-1-induced adrenal catecholamine secretion in vivo. *Am J Physiol* - 1997. 272:R1290-1297.
5. Medvedeva N.A., Grafov M.A., Davydova S.A., Medvedev O.S. Physiological role of endothelin-1 in coronary vessels control in anesthetized rats. In: *Medicine. Universities as Centres of Fundamental Research*. Moscow University Press 1995. Book II: 149-156.
6. Kuzmin AI, Pogorelov VM, Zaretsky DV, Medvedev OS, Chazov EI. Comparison of the effects of 2-deoxyglucose and immobilization on secretion and synthesis rate of catecholamines in the adrenal gland: microdialysis study in conscious rats. *Acta Physiol Scand* - 1995. 155:147-155.